

This Page Is Inserted by IFW Operations  
and is not a part of the Official Record

## **BEST AVAILABLE IMAGES**

Defective images within this document are accurate representations of the original documents submitted by the applicant.

Defects in the images may include (but are not limited to):

- BLACK BORDERS
- TEXT CUT OFF AT TOP, BOTTOM OR SIDES
- FADED TEXT
- ILLEGIBLE TEXT
- SKEWED/SLANTED IMAGES
- COLORED PHOTOS
- BLACK OR VERY BLACK AND WHITE DARK PHOTOS
- GRAY SCALE DOCUMENTS

**IMAGES ARE BEST AVAILABLE COPY.**

**As rescanning documents *will not* correct images,  
please do not report the images to the  
Image Problem Mailbox.**

(19) RÉPUBLIQUE FRANÇAISE  
INSTITUT NATIONAL  
DE LA PROPRIÉTÉ INDUSTRIELLE  
PARIS

(11) N° de publication :  
(à n'utiliser que pour les  
commandes de reproduction)

**2 582 518**

(21) N° d'enregistrement national :

**86 07678**

(51) Int Cl<sup>4</sup> : A 61 L 27/00; A 61 F 2/30.

(12)

## DEMANDE DE BREVET D'INVENTION

A1

(22) Date de dépôt : 28 mai 1986.

(30) Priorité : US, 29 mai 1985, n° 738 993.

(43) Date de la mise à disposition du public de la  
demande : BOPI « Brevets » n° 49 du 5 décembre 1986.

(60) Références à d'autres documents nationaux appa-  
rentés :

(71) Demandeur(s) : Société dite : AMERICAN HOSPITAL  
SUPPLY CORPORATION. — US.

(72) Inventeur(s) : Aws Salim Nashef et Todd Duncan Camp-  
bell.

(73) Titulaire(s) :

(74) Mandataire(s) : Rinury, Santarelli.

(54) Procédé de préparation d'une matière pour greffes osseuses, cette matière et procédé de réparation de défaut osseux.

(57) L'invention concerne un procédé de préparation d'une  
matière pour greffes osseuses dérivée d'os allogénique ou  
xénogène.

Le procédé consiste à usiner un segment d'os aux dimen-  
sions souhaitées et à tanner ce segment d'os en le traitant  
avec du glutaraldéhyde dans des conditions de tannage. On  
obtient ainsi une matière hautement biocompatible, stabilisée  
et non antigénique qui s'incorpore dans l'os receveur lors-  
qu'elle est placée à proximité immédiate de celui-ci.

Domaine d'application : greffes osseuses.

FR 2 582 518 - A1

Le pontage ou comblement de gros défauts osseux tels que ceux résultant d'une expulsion traumatique, de la résection d'une tumeur radiale et d'une séquestration massive due à une infection constitue l'un des problèmes orthopédiques les plus difficiles à résoudre. L'os autogénique frais est considéré comme la meilleure matière de greffage. Cependant, il existe des cas où des quantités suffisantes d'os autogéniques ne sont pas disponibles ou bien dans lesquels la chirurgie secondaire pour l'obtention de l'os est trop importante et traumatisante.

L'utilisation de matière exogène peut atténuer la nécessité de la chirurgie secondaire pour l'obtention d'une matière de greffage convenable. En outre, le taux de défaillance des autogreffes osseuses est compris entre 13 et 30 % et il est même encore plus élevé lorsque l'on utilise de l'os allogénique congelé ou lyophilisé. Il existe donc clairement la nécessité de disposer d'une matière pour greffes convenable pouvant être utilisée dans la réparation de défauts osseux, y compris ceux secondaires aux tumeurs, traumatismes et ostéomyélite.

On a procédé à divers essais pour utiliser une matière pour greffes osseuses exogènes avec divers degrés de succès. Deux processus fondamentaux ont été suivis : l'ostéoinduction et l'ostéoinvasion. La différence principale entre ces procédés réside dans le mode de croissance de l'os receveur. Les greffes osseuses ostéoinductives reposent sur la greffe de l'os pour induire des cellules constituant des précurseurs ostéogéniques dans la moëlle et les tissus conjonctifs entourant la greffe afin de différencier et donner naissance à des formations osseuses nouvelles. Les greffes osseuses ostéoinvasives reposent sur la migration de cellules du receveur dans la greffe et sur la production par

ces cellules de formations osseuses nouvelles.

Des deux procédés, les greffes ostéoinductives ont donné davantage satisfaction que les greffes ostéoinvasives. En général, les greffes ostéoinductives ont été incorporées dans l'os receveur en une période de 2 à 6 semaines, alors qu'il est apparu que des greffes ostéoinvasives n'étaient pas incorporées au bout d'une année après l'implantation.

L'invention concerne un procédé de préparation d'une matière pour greffes osseuses biocompatible, non antigénique et pouvant être incorporée, à partir d'os allogénique ou xénogène. L'os peut être pulvérisé, utilisé sous la forme d'un gros bloc ou usiné suivant une forme précise et prédéterminée suivant le défaut osseux à réparer. Le procédé de préparation de la matière consiste à tanner l'os avec du glutaraldéhyde. Ce processus de tannage s'est révélé donner une matière stabilisée, non antigénique et hautement biocompatible, qui est ostéoinvasive. Il est apparu que l'os receveur adjacent à la matière de greffage a envahi cette dernière au bout seulement de 3 mois.

L'invention concerne une matière préparée biologiquement, biocompatible, non antigénique et pouvant être incorporée, à utiliser comme substitut d'os générique, ainsi qu'un procédé de production de cette matière. La matière de substitution d'os est dérivée d'os tanné au glutaraldéhyde, qui s'est révélé être hautement biocompatible. L'os receveur envahit aisément l'os tanné au glutaraldéhyde lorsque ce dernier est implanté à proximité immédiate de l'os receveur.

Le traitement au glutaraldéhyde stabilise la matière et la rend non antigénique en réticulant les protéines. Du fait de l'absence d'antigénicité, l'os de départ, à partir duquel la matière est préparée, peut être obtenu à partir de sources autogènes ou exogènes.

Des sources d'os largement utilisables et convenables comprennent, à titre non limitatif, des sources bovines, ovines, chevalines et porcines.

La matière pour greffes osseuses préparée à partir de l'os de base ou de départ peut se présenter sous plusieurs formes suivant le défaut osseux particulier que la matière à greffer doit réparer. On peut utiliser les formes suivantes, données à titre non limitatif : (a) un bloc qui est ensuite façonné par le chirurgien au contour réel du défaut ; (b) une forme pulvérisée (particules comprises entre moins de 100  $\mu$ m et plus de 300  $\mu$ m) en suspension dans un support gélatineux (de nature biologique ou non biologique), qui est appliquée sur le défaut et se solidifie ensuite ; (c) un support moulable, semi-solidifié, qui est imprégné d'os pulvérisé ; et (d) des formes prédéterminées (par exemple des cylindres) qui sont utilisées pour combler de gros défauts. Dans les formes identifiées en (b) et (c) ci-dessus, la dimension des particules utilisées dépend du degré de densité d'os souhaitée (c'est-à-dire que des particules de plus faible dimension donnent un os nouveau de densité plus élevée qui peut s'appliquer dans des situations où des charges doivent être supportées).

On peut mettre en oeuvre des techniques classiques d'usinage pour façonner l'os en une forme et une dimension prédéterminées et précises. La possibilité d'usiner avec précision l'os pour obtenir la forme exacte demandée pour la réparation d'un défaut particulier constitue l'un des avantages du procédé de l'invention. Le substitut d'os résultant conserve sa forme et le chirurgien n'a pas à façonner la matière pendant l'implantation.

Des procédés connus pour fragmenter de l'os, y compris, mais à titre non limitatif, le broyage, le

concassage et la pulvérisation, peuvent être utilisés pour produire de l'os pulvérisé ayant des particules de dimension souhaitée, y compris une poudre fine. De la solution saline physiologique peut être ajoutée à l'os pulvérisé/en poudre en quantité suffisante pour former une suspension analogue à une pâte. En variante, la matière osseuse est combinée à des supports tels que mentionnés précédemment. De tels supports comprennent, à titre non limitatif, des gélatines et des polysaccharides. Les suspensions résultantes peuvent être moulées ou coulées suivant la forme souhaitée, injectées (à l'aide d'une seringue hypodermique) dans un défaut osseux, ou façonnées pour s'ajuster sur un défaut pendant l'implantation. Le support peut solidifier ou être résorbé après l'implantation ou peut conserver sa consistance initiale. De telles suspensions peuvent être utilisées pour combler divers défauts osseux comprenant des cavités ou des galeries, des ébréchures d'os ou de petits défauts osseux.

Pour certaines applications, l'os pulvérisé ou en poudre ne constitue pas la matière de greffage préférée. Un exemple est l'implantation d'une matière de greffage osseuse en une position portant une charge.

La matière de greffage selon l'invention convient à une utilisation dans la réparation d'une large gamme de défauts osseux résultant de blessure, de maladie ou de tares. La matière peut également être utilisée en chirurgie plastique. La matière peut être implantée à la fois dans des zones portant des charges et dans des zones ne portant pas de charges, et l'on donnera ci-après un petit échantillonnage des nombreuses utilisations potentielles de cette matière.

La matière de remplacement d'os selon l'invention peut être utilisée pour la réparation de défauts tels que de grandes lacunes (y compris celles trop éten-

dues pour pouvoir être comblées par la seule stimulation électrique), par exemple les défauts résultant de fractures multiples ou de l'élimination chirurgicale de parties osseuses malades. Un bloc façonné de matière de greffage peut être incorporé, pour l'allonger, dans l'os approprié d'individus ayant un bras ou une jambe plus long que l'autre. La matière de remplacement d'os selon l'invention est en général assez résistante pour être utilisée comme partie de gros os portant une charge, tels que le tibia ou le fémur.

Le traitement de certaines fractures, telles que celles de la hanche, comprend parfois le perçage d'une galerie et l'insertion d'une broche jusqu'à la guérison de la fracture. Lorsque la broche est retirée, la galerie vide est lentement remplie par le mécanisme d'ostéosynthèse naturelle du patient. Une guérison plus rapide peut être obtenue par remplissage de la galerie avec la matière de greffage de l'invention. D'autres utilisations comprennent la reconstruction osseuse maxillo-faciale et le bouchage ou comblement de défauts dus à des ébréchures d'os.

Le procédé de production de la matière pour greffes osseuses selon l'invention est un procédé à plusieurs étapes dont l'ordre peut varier. Le procédé commence avec la sélection d'une source d'os. Tout os de base convenable, allogénique ou xénogène, aisément disponible, peut être utilisé, y compris de l'os de nature bovine, porcine, ovine et chevaline, comme décrit précédemment. Si la forme souhaitée finale de la matière pour greffes osseuses est un bloc d'os ou une forme usinée, l'os de départ doit être assez grand pour permettre la formation d'un bloc de la dimension demandée.

L'os de départ est obtenu frais et la partie d'os souhaitée est prélevée grossièrement par tous moyens convenables, par exemple par découpage à l'aide d'une scie, avec rinçage fréquent dans un fluide tel que de

l'eau distillée ou de la solution saline pour maintenir l'os humide et froid (à ou au-dessous de la température physiologique afin d'empêcher la dénaturation des matières osseuses telles que le collagène). Le tissu conjonctif associé (tendons, ligaments et aponévroses) est éliminé. Une pièce d'os plus petite, qui se rapproche plus étroitement des dimensions de la prothèse finale souhaitée, peut être obtenue par carottage à l'aide, par exemple, d'un trépan. La pièce d'os est comme précédemment rincée et refroidie avec un fluide pendant le sciage et après pour éliminer les débris.

Si l'os doit être pulvérisé plutôt qu'usiné à une forme précise, la pulvérisation peut être effectuée par tout moyen convenable en tout point de ce processus à plusieurs étapes.

On peut utiliser tous moyens classiques d'usinage de matières dures, y compris des perceuses, des tours, des scies et d'autres outils, pour obtenir la forme finale souhaitée à partir de la pièce d'os. Celle-ci peut ensuite être nettoyée afin que les huiles et les débris d'usinage soient éliminés (si la pièce a été usinée) et afin également que la surface de la matière soit dégraissée. Tout solvant convenable peut être utilisé à cet effet. Un processus avantageux consiste à plonger l'os dans l'éthanol à 100 %, puis à le rincer avec de la solution saline.

La pièce d'os est ensuite avantageusement traitée de manière à accroître la porosité de la matrice et donc à favoriser encore plus la croissance de l'os receveur dans la matière greffée. On peut effectuer ce traitement en soumettant l'os à une extraction avec un solvant organique, tel que du chloroforme, de l'éthanol à 100 %, un mélange chloroforme:méthanol (1:1), de l'acétone ou des solvants similaires, cette opération étant suivie d'un rinçage dans de la solution saline



physiologique pour éliminer le solvant organique. Cette étape d'augmentation de la porosité peut comprendre facultativement le traitement de la pièce d'os avec une protéase telle que de la "Pronase<sup>®</sup>", de la collagénase ou de la hyaluronidase. Dans un procédé particulièrement avantageux, les pièces d'os sont immergées dans une solution tamponnée de "Pronase<sup>®</sup>" à 37°C pendant 24 heures, puis rincées dans une solution saline normale tamponnée et soumises à une extraction par le mélange chloroforme:méthanol (1:1) en étant immergées pendant une heure, avec agitation constante, à 25°C, avant d'être rincées dans de la solution saline normale tamponnée. Ce traitement élimine les protéines non liées en matrice (non collagènes). Il est souhaitable que la totalité de ces protéines soit éliminée. Si toutes ces protéines sont éliminées, la porosité de la matrice peut être augmentée d'une valeur pouvant atteindre 10 %. Le traitement consiste en outre à réduire l'antigénicité de la matière. Le niveau de porosité peut être déterminé par un examen visuel et confirmé par microscopie à la lumière ou électronique.

La matière osseuse peut être déminéralisée si cela est souhaité. Tout agent connu de déminéralisation peut être utilisé, y compris, mais à titre non limitatif, des solutions contenant des acides organiques ou minéraux (tels que l'acide formique, l'acide chlorhydrique, l'acide nitrique, l'acide citrique ou l'acide oxalique) et/ou des chélateurs de  $Ca^{++}$  tels que le tétraacétate d'éthylènediamine (EDTA). La solution de déminéralisation comprend avantageusement du HCl 0,1 à 1,0N, plus avantageusement du HCl 0,3N. La solution comprend aussi, de façon avantageuse, jusqu'à 1 % d'EDTA, plus avantageusement 0,1 % d'EDTA. La déminéralisation peut servir à augmenter la porosité de la matière de greffage. L'os déminéralisé possède une texture plus

tendre, plus "spongieuse" que l'os non déminéralisé, et il ne peut donc être utile que dans les cas où aucune charge ne doit être portée, tels que la réparation de petits défauts, le comblement de galeries ou d'autres zones évidées, la chirurgie plastique et des usages similaires. L'os pulvérisé, traité conformément au procédé de l'invention, convient particulièrement à une déminéralisation. Lorsque l'os déminéralisé est implanté à proximité immédiate de l'os receveur, ce dernier peut l'envahir (processus d'ostéoinvasion).

La pièce d'os est traitée au glutaraldéhyde dans des conditions de tannage. Cette étape de tannage peut être effectuée en un point quelconque du processus à plusieurs étapes de préparation de la matière de greffage. L'os de départ peut être tanné avant ou après l'usinage ou la pulvérisation, et avant ou après l'étape consistant à augmenter la porosité, par exemple. L'étape de tannage suit avantageusement les étapes d'usinage/pulvérisation, nettoyage et dégraissage de surface et d'augmentation de porosité.

L'os est traité avec une solution comprenant du glutaraldéhyde à une concentration suffisante pour réticuler les protéines présentes. La concentration de glutaraldéhyde est avantageusement comprise entre 0,2 % et environ 0,8 %, et est plus avantageusement d'environ 0,6 % (poids/volume). La solution est avantageusement tamponnée avec tout agent de tamponnement communément utilisé. La solution est plus avantageusement tamponnée avec un agent du type "HEPES". La pièce d'os est tannée sous des conditions de pH physiologique. Le pH est avantageusement compris entre 6,8 et 7,5.

Le processus de tannage est poursuivi jusqu'à ce que les protéines aient été réticulées à un degré suffisant pour rendre l'os non antigénique lorsqu'il est implanté chez un receveur d'une espèce autre que

celle à partir de laquelle il est dérivé. Le degré de réticulation doit également être suffisant pour stabiliser la matière osseuse. La stabilité doit être telle que la matière pour greffes osseuses ne se décompose pas après l'implantation, mais qu'elle reste plutôt intacte au moins pendant un temps suffisant pour permettre la croissance de l'os receveur dans la matrice formée par la matière de greffage. Cette dernière est avantagement stabilisée et incorporée de façon permanente dans l'os receveur. L'os est mis en contact avec le glutaraldéhyde pendant tout intervalle de temps suffisant pour réticuler les protéines au degré souhaité. L'os est avantagement traité au glutaraldéhyde pendant environ un mois ou plus.

Le traitement au glutaraldéhyde confère de nombreuses propriétés souhaitées à la matière. Par exemple, la réticulation des protéines par le glutaraldéhyde rend la matière non antigénique, de sorte qu'elle peut être implantée dans un hôte autre que celui duquel l'os de départ a été prélevé pour produire la matière de greffage. L'os traité au glutaraldéhyde s'est avéré d'une excellente biocompatibilité. Lorsqu'un os traité au glutaraldéhyde est implanté dans un os receveur de mammifère, il n'apparaît en général aucun enrobage fibreux, aucune interposition de tissu fibreux entre l'os receveur et l'os implanté, ni aucune autre marque de rejet. Par contre, dans le cas d'un os non déminéralisé, l'os receveur croît dans l'os implanté, l'incorporant ainsi. Par contre, l'interposition de tissu fibreux et l'enrobage constituent des problèmes connus lorsque des implants constitués de matières moins biocompatibles sont introduits dans le corps de mammifères.

La résorption de la matière osseuse implantée constitue un autre problème connu. La matière résorbée peut être remplacée ou non par l'hôte ou receveur. Dans

certains cas, il peut être souhaitable d'implanter une prothèse qui est résorbée pendant que l'os receveur la remplace. Dans ce cas, l'étape de tannage par le glutaraldéhyde peut être remplacée par un tannage effectué  
5 avec un agent différent (par exemple un formaldéhyde ou un alcool) qui rend la matière osseuse résorbable. Cependant, dans la plupart des cas, il est souhaitable que la matière implantée conserve sa forme et sa position et qu'elle ne soit pas résorbée. La réticulation qui  
10 peut se produire pendant le tannage au glutaraldéhyde produit une matière de greffage stabilisée, qui n'est généralement pas résorbée.

Après le tannage au glutaraldéhyde, la pièce osseuse peut encore être stérilisée par tout moyen convenable, y compris une irradiation ou une immersion  
15 dans de l'éthanol ou une solution bactéricide. On utilise avantageusement un mélange stérilisant tamponné surfactant/formaldéhyde/éthanol comme décrit dans la demande de brevet des Etats-Unis d'Amérique N° 669 735, déposée  
20 le 8 Novembre 1984. La matière de greffage peut être stockée dans une solution stérile convenable telle que 0,05 % (poids/volume) de glutaraldéhyde dans un tampon de "HEPES", dans des récipients stériles, jusqu'au moment requis.

Des techniques chirurgicales classiques  
25 sont utilisées pour positionner la matière pour greffes osseuses. En général, les parties endommagées de l'os receveur sont éliminées et la matière de greffage, façonnée de façon à remplacer la partie osseuse manquante,  
30 est attachée à l'os receveur. Des moyens classiques de fixation, tels que des fils métalliques et des vis, des broches intramédullaires, des plâtres ou des dispositifs de fixation externes, peuvent être utilisés pour positionner la matière de greffage pendant la guérison.  
35 La croissance de l'os receveur dans la greffe sert à

ancrer cette dernière, et les fils et vis peuvent être retirés à ce moment si cela est souhaité.

En variante, dans des cas tels que le bouchage d'une galerie laissé après l'enlèvement d'une broche chirurgicale, de la matière de greffage usinée peut être introduite dans l'os receveur et maintenue par emboîtement à frottement. Une suspension comprenant de la matière pour greffes osseuses pulvérisée, en suspension dans un support, peut également être utilisée pour boucher de telles galeries ou de petits défauts osseux.

Le procédé de production de la matière pour greffes osseuses selon l'invention est illustré par l'exemple suivant. Il est évident à l'homme de l'art qu'il est possible de modifier l'ordre des étapes, la forme de la prothèse et d'autres aspects du procédé de l'invention et les prothèses ainsi produites sans sortir du cadre de l'invention. Par conséquent, l'exemple n'est donné qu'à titre illustratif et non limitatif de l'invention.

#### Exemple 1

##### Implants osseux usinés

On a utilisé le procédé suivant pour préparer des implants osseux usinés constitués de la matière pour greffes osseuses selon l'invention.

Des plaques d'os ont été découpées dans des pattes postérieures fraîches de bovins, dont la peau et les sabots ont été retirés, fournies par un abattoir. La plaque d'os a été coupée antérieurement à l'articulation cheville-tibia, dans la région de la plaque épiphysaire s'étendant antérieurement sur environ 3,8 à 5 cm. En général, une certaine zone de moëlle tendre est retenue. Le tissu conjonctif associé (tendons, ligaments et aponévroses) a été retiré avant le passage en atelier où les plaques d'os ont été gelées à 0°C

jusqu'à ce qu'elles soient traitées.

On a choisi une plaque d'os donnant au moins une pièce d'os de 19 mm sans la plaque épiphysaire. Des pièces d'os ont été extraites de la zone antérieure à la plaque épiphysaire (c'est-à-dire la zone allant de la plaque épiphysaire jusqu'à la moëlle osseuse de l'os long) et de la zone postérieure à la plaque épiphysaire (c'est-à-dire de la zone allant de la plaque épiphysaire jusqu'au cartilage articulaire).

La plaque d'os a été mise en place dans un étau de perceuse et carottée à l'aide d'une tréphine utilisée pour la biopsie clinique de l'os. De l'eau distillée a été utilisée pour refroidir et rincer l'os pendant le carottage. Les pièces d'os résultantes étaient de forme cylindrique, d'un diamètre d'environ 2,8 mm et d'une longueur d'environ 12,5 mm. La partie restante de la plaque d'os a été rejetée.

Les pièces d'os ("carottes osseuses") ont ensuite été nettoyées en surface dans de l'éthanol à 100 % afin que les huiles et les débris d'usinage soient éliminés. Les carottes ont été plongées dans l'alcool pendant une demi-heure et, après la première demi-heure, l'alcool a été remplacé par de l'éthanol frais à 100 % pendant une demi-heure supplémentaire. L'alcool a été maintenu à la température ambiante, environ 25°C. Le deuxième rinçage à l'alcool a été vidé et les carottes osseuses ont été rincées dans de la solution saline normale à 0,9 %. Initialement, on a procédé à un rinçage rapide pour nettoyer l'extérieur des carottes et le récipient. Ce rinçage a été suivi de deux rinçages de 30 minutes dans de la solution saline à 0,9 %.

Les carottes ont fait l'objet d'un examen visuel portant sur l'intégrité de la matrice, la porosité et les dimensions souhaitées. Les carottes acceptables ont ensuite été tannées par immersion dans du glutaraldéhyde à 0,625 % (poids/volume) dans un tampon constitué

de "HEPES" pendant au moins un mois.

Les carottes osseuses ont été stérilisées par immersion dans une solution constituée de 4 % de formaldéhyde, 22,5 % d'éthanol et 1,2 % de "Tween", tamponnée au "HEPES", pH 7,4, pendant au moins 8 heures et au plus 24 heures à 37°C. Puis les carottes ont été rincées (quatre rinçages de 10 minutes et un rinçage de 6 heures) et stockées jusqu'au moment requis dans du glutaraldéhyde tamponné au "HEPES" à 0,5 % (poids/volume). Avant l'implantation, les carottes ont été rincées dans de la solution saline normale jusqu'à ce que le glutaraldéhyde résiduel (tel que mesuré par chromatographie en phase liquide à haute performance) soit abaissé à des niveaux non toxiques.

Les carottes préparées ci-dessus ont été introduites dans des trous complémentaires formés dans des fémurs de lapins selon des techniques chirurgicales classiques. Le quadriceps a été détaché et tiré sur le côté, au-dessus du condyle du fémur, et un trou d'un diamètre de 2,8 à 3 mm a été ménagé dans le fémur de façon à traverser le cortex antérieur pour pénétrer dans la région médullaire, mais sans pénétrer dans le cortex postérieur. La zone a été rincée à la solution saline pour éliminer tous les débris. La profondeur du trou formé dans le fémur correspondait à celle de la carotte osseuse à insérer afin que la surface de la carotte insérée affleure la surface du condyle. On a évité ainsi que la carotte dépasse, ce qui pourrait endommager le muscle ou provoquer la formation d'un cal étendu durant le processus de restauration.

Les carottes osseuses insérées ont été maintenues en place par emboîtement à frottement et par la pression du quadriceps associée appliquée à leur sommet. La zone a été fermée par suture et les carottes implantées ont été laissées en place pendant un à six mois

avant d'être récupérées sur chaque lapin. Les carottes récupérées ont été soumises à des évaluations histologiques en laboratoire de référence vétérinaire et un rapport a été rédigé mensuellement. Les constatations d'ensemble associées à toutes les études ont montré qu'il ne se formait aucun cloisonnement fibreux de l'implant et qu'il apparaissait une invasion par l'os receveur dans les surfaces endostéale, intramédullaire (région de la moëlle) et périostéale. Par conséquent, une invasion d'ensemble de toutes les surfaces osseuses a été démontrée. Un colorant à la phloxine et à la tartrazine a été utilisé pour différencier l'os nouveau et l'os ancien, ainsi que pour établir depuis combien de temps l'os nouveau a été déposé. L'os nouvellement déposé présente habituellement une structure osseuse de type tissé, tandis qu'une structure osseuse de type lamellaire est présentée par l'os plus ancien. Une invasion de l'implant par l'os receveur (ostéoconduction) est apparue dès trois mois.

Des carottes dérivées de l'os, provenant de la région postérieure à la plaque épiphysaire (voir ci-dessus) sont apparues présenter une invasion légèrement supérieure par l'os receveur.

#### Exemple 2

#### Matière pour greffes osseuses comprenant de l'os pulvérisé

On a découpé des plaques d'os dans des pattes postérieures de bovins, comme décrit dans l'exemple 1. Une plaque d'os a été fragmentée et lavée à l'eau distillée afin que toutes les substances hydrosolubles soient éliminées. Puis l'os a été séché et encore pulvérisé dans un broyeur à l'azote liquide. La matière a ensuite été tamisée et on a isolé des particules comprises dans la plage de dimensions souhaitées (environ 75 micromètres). L'os pulvérisé a ensuite été immergé



dans une solution comprenant du HCl 0,3N et d'acide d'éthylènediaminetétra-acétique à 0,1 % jusqu'à ce que l'os soit complètement déminéralisé. Cette opération a été suivie de plusieurs lavages dans l'eau distillée, puis la matière osseuse a été plongée lors de trois lavages dans de l'éthanol à 100 %, et séchée. La matière a été soumise à une extraction avec un mélange chloroforme:méthanol (1:1), traitée à la "Pronase"® et tannée au glutaraldéhyde par les processus décrits dans l'exemple 1.

La matière pour greffes osseuses a été rincée à la solution saline afin que le glutaraldéhyde soit éliminé (comme dans l'exemple 1), et combinée à de la gélatine et implantée dans une galerie restant dans un os receveur après l'enlèvement d'une broche chirurgicale. La gélatine s'est solidifiée après l'implantation.

Il va de soi que de nombreuses modifications peuvent être apportées au procédé décrit sans sortir du cadre de l'invention.

REVENDICATIONS

1. Procédé de préparation d'une matière pour greffes osseuses biocompatible, stable et non antigénique, à partir d'un os de base allogénique ou xénogène, caractérisé en ce qu'il consiste à usiner un segment d'os aux dimensions souhaitées et à tanner le segment d'os en le traitant avec du glutaraldéhyde dans des conditions de tannage.
2. Procédé selon la revendication 1, caractérisé en ce que le segment d'os est traité avec une solution de tannage contenant du glutaraldéhyde à une concentration suffisante pour réticuler sensiblement les protéines contenues dans le segment d'os.
3. Procédé selon la revendication 2, caractérisé en ce que le segment d'os est traité avec une solution de tannage comprenant environ 0,2 % à environ 0,8 % (poids/volume) de glutaraldéhyde.
4. Procédé selon la revendication 3, caractérisé en ce que la solution de tannage contient environ 0,6 % (poids/volume) de glutaraldéhyde.
5. Procédé selon la revendication 2, caractérisé en ce que la solution de tannage comprend en outre un tampon.
6. Procédé selon la revendication 5, caractérisé en ce que le tampon est du type "HEPES".
7. Procédé selon la revendication 1, caractérisé en ce que les conditions de tannage comprennent un pH physiologique.
8. Procédé selon la revendication 7, caractérisé en ce que le pH est compris entre environ 6,8 et environ 7,4.
9. Procédé selon la revendication 1, caractérisé en ce que le segment d'os est traité au glutaraldéhyde pendant un temps suffisant pour réticuler sensiblement les protéines contenues dans le segment d'os.

10. Procédé selon la revendication 9, caractérisé en ce que le segment d'os est traité au glutaraldéhyde pendant au moins environ un mois.

5 11. Procédé selon l'une quelconque des revendications 1, 2, 5, 7 ou 9, caractérisé en ce que le degré de réticulation est suffisant pour rendre l'os biocompatible, stable et non antigénique.

10 12. Procédé selon la revendication 1, caractérisé en ce qu'il consiste en outre à traiter le segment d'os avec une protéase afin d'accroître la porosité de la matrice.

15 13. Procédé selon l'une des revendications 1 et 12, caractérisé en ce qu'il consiste en outre à soumettre le segment d'os à une extraction avec un solvant organique pour accroître la porosité de la matrice.

14. Procédé selon la revendication 1, caractérisé en ce qu'il consiste en outre à stériliser la matière pour greffes osseuses.

20 15. Procédé selon la revendication 1, caractérisé en ce qu'il consiste en outre à dégraisser la surface et à éliminer les huiles d'usinage du segment d'os avec de l'éthanol.

25 16. Procédé selon la revendication 1, caractérisé en ce qu'il consiste en outre à déminéraliser le segment d'os.

30 17. Procédé de préparation d'une matière pour greffes osseuses biocompatible et non antigénique à partir d'os de base allogénique ou xénogène, caractérisé en ce qu'il consiste à pulvériser un segment d'os pour obtenir de l'os pulvérisé, à tanner l'os pulvérisé avec du glutaraldéhyde dans des conditions de tannage, et à combiner l'os pulvérisé à un support gélamineux ou semi-solidifié.

35 18. Procédé selon la revendication 17, caractérisé en ce qu'il consiste en outre à traiter l'os

avec une protéase pour accroître la porosité de la matrice.

5 19. Procédé selon l'une des revendications 17 et 18, caractérisé en ce qu'il consiste en outre à soumettre l'os à une extraction avec un solvant organique pour accroître la porosité de la matrice.

20. Procédé selon la revendication 17, caractérisé en ce qu'il consiste en outre à stériliser la matière pour greffes osseuses.

10 21. Procédé selon la revendication 17, caractérisé en ce qu'il consiste en outre à éliminer les graisses et les huiles d'usinage de l'os avec de l'éthanol.

15 22. Procédé selon la revendication 17, caractérisé en ce qu'il consiste en outre à déminéraliser l'os.

20 23. Matière pour greffes osseuses biocompatible, non antigénique et stable, caractérisée en ce qu'elle comporte de l'os de base allogénique ou xénogène, usiné à une forme souhaitée et tanné avec du glutaraldéhyde dans des conditions de tannage.

25 24. Matière pour greffes osseuses biocompatible, non antigénique et stable, caractérisée en ce qu'elle comporte de l'os de base allogénique ou xénogène qui a été pulvérisé ou mis en poudre et tanné avec du glutaraldéhyde dans des conditions de tannage.

30 25. Matière pour greffes osseuses selon l'une des revendications 23 et 24, caractérisée en ce qu'elle présente une ostéoconduction lorsqu'elle est implantée à proximité immédiate d'un os receveur.

35 26. Procédé de réparation de défauts osseux, caractérisé en ce qu'il consiste à éliminer des parties endommagées ou malades pouvant être présentes dans l'os receveur et à implanter la matière pour greffes osseuses selon l'une des revendications 23 et 24, afin de réparer

le défaut.

27. Procédé selon la revendication 1, caractérisé en ce que le segment d'os est mis en contact avec une solution tamponnée de tannage comprenant environ  
5 0,2 % à environ 0,8 % (poids/volume) de glutaraldéhyde pendant au moins environ un mois.